

Prosjektplan

Hemolytisk titrering av blodgivere

Skrevet av: Marte Sivertsen, Elise Nedberg og Kaia Devik Johnsen

Bakgrunn og problemstilling

I 1900 oppdaget Landsteiner ABO-systemet hvor han påviste tilstedeværelsen av agglutinerende antistoffer i serumet til individer som mangler det tilsvarende ABO-antigenet (Landsteiner, 1901) I følge Landsteiners regel dannes det naturlig forekommende antistoffer mot det ABO-antigenet som individet mangler. Blodgivere med blodtype O (O-givere) har ingen antigener på sine røde blodceller og kalles derfor for universaldonorer (Howard, 2017, p. 209). Ifølge Landsteiners regel har de da antistoffer mot antigen-A og antigen-B, som forkortes anti-A og anti-B. Alle har ulike nivåer av anti-A og anti-B i blodet. Nivåene graderes i titer. I dag brukes O-givere blant annet til å fremstille fullblod for fullblodtransfusjoner, men også til blodplatekonsentrat, som kan gis til personer med blodtype A, B og AB.

Givere selekteres etter det er blitt titrert plasma med tanke på anti-A og anti-B. Dette gjøres for å unngå at anti-A og/eller anti-B i blodproduktet hemolyserer pasientens egne røde blodceller. Teknikken som blir brukt baserer seg på antistoffenes evne til å agglutinere A- og B-erytrocytter. Det er ikke selve agglutineringsprosessen som er farlig for pasienten, men antistoffenes hemolyserende evne.

Det er antistoffenes hemolyserende evne som er utgangspunktet for oppgaven. Den hemolyserende evnen kan undersøkes når vi blander A- og B-celler, komplement og pasient serum. Ved å studere supernatanten etter sentrifugering vil man kunne se på fargen i brønnen hvor sterk hemolysen er. For å få et nøyaktig svar blir mikrotiterplaten med prøvene målt ved hjelp av en plateleser, som måler absorbansen.

Dermed formuleres problemstillingen til oppgaven vår slik: «Til tross for høy agglutinerende titer; kan blodgivere med blodtype O brukes i krisesituasjoner, som krig, en bestanddel i legehelikopter og/eller kriselageret i blodbanken dersom den hemolyserende titeren er lav?»

Material og metode

Det benyttes detaljerte prosedyrer fra veiledere på Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin. Hensikten med analysen er å evaluere hemolyserende mengde anti-A og anti-B i serum fra blodgivere med blodtype O og høyt titer.

Ettersom den hemolytiske titeringen skal sammenlignes med den agglutinerende titeringen er det nødvendig å sette seg inn i teorien og tilegne seg forståelse for utførelsen og prosedyrer.

Et høyt titer defineres som titer > 250 for IgM-type og/eller > 500 for IgG-type anti-A og anti-B. Dersom blodgiveren får agglutinasjonsutslag ved gradering 1+ eller høyere på ett av de fire antistoffene som det testes mot, vil blodgiveren defineres som høyt titer. Dersom det kun er utslag ved gradering (+) på en eller flere av antistoffene, vil blodgiver defineres som lavt titer.

Tecan SunriseTM er analyseinstrumentet som blir benyttet for absorbanmåling av hemolyse, produsenten er Tecan, Sveits. Plateleseren er bygd opp som en fotodioderekke som deteksjonsenhet. Lengden lyset vandrer gjennom prøven bestemmes av volumet pipettert i brønnen. Avlesingen skjer ved 405 nm, med referansebølglengde på 492 nm. Vi forholder oss til en cut-off verdi på $>0,05$ i forhold til bakgrunnsstøy.

Vi skal også sette oss inn i måling av hemolyse i plasma med analyseinstrumentet *HemoCue Low Hemoglobin Fotometer* fra produsent HemoCue, Sverige, i henhold til avdelingens protokoll.

Resultatene blir foreløpig behandlet med Excel, dersom vi vil publisere benytter vi SPSS.

Data vil bli innhentet av Marte Sivertsen da hun har tilgang til Prosang.

Etiske betraktninger

Ettersom dette prosjektet er en kvalitetsstudie, er det ikke nødvendig å sende søknad til Regional Etisk Komité (REK). Vi søker internt (Laboratorieklinikken) om å få ekstrarør (serum) tatt av blodgivere under blodgivning på tappesalen.

Det som er relevant for oss er om blodgiver er O Rh + eller O Rh -, og i tillegg om de er vurdert som høyt eller lavt titret.

Fremdriftsplan

Den første uken har vi hovedsakelig arbeidet med prosedyren og øvd på å gjennomføre denne. Dette for å skape mer forståelse over arbeidet vi utfører i tillegg til å finne forbedringer i prosedyren.

Den andre uken (uke 12) ble det litt forsinkelser med prøveanalysering på grunn av manglende buffer. Denne uken ble søknaden om å få blodprøver fra givere som gir blod på tappesalen, godkjent. I uke 13 har vi kjørt omlag 30 giverprøver og skrevet teori. Vi er fortsatt forberedt på at det kan oppstå situasjoner som gjør at vi må jobbe enda mer hjemmefra med tanke på smittesituasjoner ifm Koronapandemien (Covid-19). HVL er i denne forbindelse foreløpig stengt, som gjør at vi ikke får benyttet oss av bibliotek og grupperom der. Dette er også noe som skaper problemstillinger med tanke på at vi ikke får arbeidet sammen så mye. Dette har vi løst med å fordele mer oppgaver og temaer som vi skal skrive om.

Dersom veileder skal kontakte gruppen, skal alle gruppens medlemmer kontaktes alltid.

Tabell 1: Foreløpig tidsplan, på grunn av sikkerhet rundt situasjonen i forbindelse med Covid-19 er det ikke spikret datoer, dette vil vi gjøre med intern veileder Anita Ryningen.

	Uke 11	Uke 12	Uke 13	Uke 14	Uke 15
	9.-13. mars	16.-20. mars	23.-27. mars	30. mars - 3. april	6.-7. april
Elise			Skriving (bakgrunn, metode, referanser)	Lab/ Begynne på presentasjon til underveis-evalueringen	Jobbe med presentasjon til underveis-evaluering/skriving
Kaia			Lab	Database/skriving	Skriving (bakgrunn, metode, resultater, referanser)
Marte			Tappesalen	Tappesalen	Lab
Kommentar	Forsinkelser..	Forsinkelser..	Kun prøver fra ferdig titrerte givere		
Prøver		Fra ferdig titrerte givere: 18	Fra ferdig titrerte givere:	Fra ferdig titrerte givere: Fra nylig titrerte givere:	Fra ferdig titrerte givere: Fra nylig titrerte givere:
	Uke 16	Uke 17	Uke 18	Uke 19	Uke 20
	14.-17. april	20.-24. april	27. -30. april	4.-8. mai	11.-15. mai
Elise	Lab ons- tors/presentasjon			Statistikk/skriving	Skriving

Kaia	Lab man- tirs/presentasjon			Statistikk/skriving	Skriving
Marte	Tappesalen?/Innhente opplysninger fra ProSang og tidligere titeringer	Tappesalen		Tappesalen	Innhente opplysninger fra ProSang og tidligere titeringer
Kommentar		Underveis- presentasjon			
Prøver	Fra ferdig titrerte givere: Fra nylig titrerte givere:	Fra ferdig titrerte givere: Fra nylig titrerte givere:	Fra ferdig titrerte givere: Fra nylig titrerte givere:		
	Uke 21	Uke 22	Uke 23	Uke 24	
	18.-22. mai	25.-29. mai	2.-5. juni	8.-12. juni	
Elise	Skriving/referanser		Presentasjon/ forberedelser	EKSAMEN tirsdag 9. juni	
Kaia	Skriving/referanser		Presentasjon/ forberedelser		
Marte	Tappesalen/skriving		Presentasjon/ forberedelser	EXPO?	
Kommentar		Innlevering bacheloroppgave			
Prøver					

Fremdriftsplan for skriving:

1. Innen prosessveiledning i uke 14 er målet å ha skrevet litt om alle teorideler, slik at vi da har et godt teoretisk grunnlag før sammenstilling av introduksjon med teori.

Teoridelen vi har planlagt er:

- Komplementsystemet
 - ABO-blodtypesystem
 - Bruk av kriseblod
 - Hemolytiske transfusjonsreaksjoner (HTR), litt om antigen-antistoff binding
 - Titrering
 - Lover og regler vi må forholde oss til i forhold til blodprodukter, kvalitetskrav
 - Litt teoretisk om analyseinstrumentet i metodedelen.
2. Innen prosessveiledning 2 er målet å ha begynt på resultatdelen. Målet er også ha sammenstilt teoridelen.
 3. Innen prosessveiledning 3 er målet å ha begynt prosessen diskusjon og konklusjon.

Ressurser

Til bachelorprosjektet har vi fått muligheten til å benytte laboratoriet for Forskning og Utvikling (FoU) og alt materiell som følger med, i tillegg til sentrifuger, kjøleskap og varmeskap på andre stasjoner. En stor ressurs er vår praktiske veileder, MSc Turid Helen Felli Lunde og vår eksterne veileder Einar Klæboe Kristoffersen. Den interne veilederen vår er Anita Ryningen ved Høgskulen på Vestlandet.

Referanseliste

- Howard, P. R. (2017). *Basic & applied concepts of blood banking and transfusion practices* (4 ed.). St. Louis: Elsevier.
- Landsteiner, K. (1901). *Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes* (14 ed.). Wien: Wien klin Woch.